

Fluitest® GLDH

GLUTAMATE DEHYDROGENASE



Order information:

Catalog No.		Contents			
H7401	Hit I (ILab*)	R1	5 x 20 ml	R2	1 x 20 ml
AU7401	AU	R1	5 x 20 ml	R2	1 x 20 ml

(*) Kit contains only reagent barcode for Hitachi system.

System information:

Hitachi 911: ACN 361-400 (user defined method)
 Hitachi 917: ACN 588
 For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

Intended use:

Test for the quantitative in vitro determination of glutamate dehydrogenase (GLDH) in human serum und plasma with clinical chemistry analyzers.

Summary:

Glutamate dehydrogenase (GLDH) is a mitochondrial enzyme which is present in many tissues. Significant elevations of GLDH activity are measured in necrosis of hepatocytes, as in acute toxic liver necrosis and in hypoxic liver diseases. The measurement of GLDH is used to evaluate the extent of parenchymal liver damage and in conjunction with the transaminases ALAT/GPT and ASAT/GOT in the differential diagnosis of liver disorders. The calculation of the (ALAT+ASAT)/GLDH ratio enables to differentiate between inflammatory liver diseases and liver necrosis due to intoxication or ischemia.

Test principle:

Optimised UV-Test according to DGKC
 $2\text{-Oxoglutarate} + \text{NADH} + \text{NH}_4^+ \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-Glutamate} + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$

Reagents – contents and concentrations:

R1:	
Triethanolamine pH 8.0	75 mmol/l
α -Ketoglutarate	10 mmol/l
Ammoniumacetate	150 mmol/l
EDTA	3.75 mmol/l
ADP	1.5 mmol/l
LDH	> 2.3 kU/l
R2:	
NADH	1.3 mmol/l

Preparation and stability:

Reagents are stable up to the indicated expiry stored at +2°C to +8°C. Protect from light. Avoid contamination!
 R1: ready to use
 R2: ready to use

Specimen:

Serum, Heparin or EDTA plasma.
 Stability: 7 days at +20°C to +25°C
 7 days at +2°C to +8°C
 4 weeks at -20°C

Centrifuge samples containing precipitates before performing the assay.

Note:

For in vitro diagnostic use. The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within $\pm 10\%$ of initial value.
 Ascorbic acid: no interference up to 30 mg/dl
 Icterus: no interference up to 60 mg/dl
 Hemolysis: no interference up to 500 mg/dl.
 Lipids interfere. The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Measuring/reportable range:

2-120 U/l
 Determine samples having higher concentrations via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute samples with 0.9% NaCl solution (e.g. 1 + 5). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 6).

Expected values:

Women < 5,0 U/L
 Men < 7,0 U/L
 Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes, GLDH results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

2 U/l
 The lower detection limit represents the lowest measurable GLDH activity that can be distinguished from zero.

Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

- Reagents as described above
- Additional materials required
- Calibrators and controls as indicated below.
- 0.9% NaCl solution
- General laboratory equipment

Manual procedure:	
Wavelength:	340nm (Hg 334nm)
Temperature:	+37°C
Cuvette:	1 cm light path
Zero adjustment:	Air or Aqua dest.
Serum/Plasma	
R1	1000 μ l
Sample	120 μ l
Mix and incubate for approx. 3min. Then add:	
R2	200 μ l
Mix, read initial absorbance after 30sec. Start stopwatch simultaneously. Read absorbance again after 1, 2 und 3min. Calculate Δ A/min.	
Calculation:	
<i>With factor:</i>	
340 nm	Δ A/min. x 1111 = GLDH activity (U/l) ^a
Hg 334 nm	Δ A/min. x 1133 = GLDH activity (U/l)
<i>With calibrator:</i>	
$\frac{\Delta$ A/min Sample}{\DeltaA/min calibrator}	X Calibrator conc. = GLDH activity (U/l)

Imprecision:

Reproducibility according to an internal protocol gave the following results:

Sample	Between Day		
	MW U/l	SD U/l	% VK
Sample 1	5.77	0.51	6.98
Sample 2	18.3	0.39	2.11
Sample 3	32.0	0.78	2.43

Sample	Within run		
	MW U/l	SD U/l	% VK
Sample 1	6.18	0.43	8.78
Sample 2	16.1	0.49	3.02
Sample 3	33.2	0.80	2.40

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest® GLDH (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result (U/l):
 $y = 1.034x + 0.006$; $r = 0.999$

Quality control:

Human control serum		
Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

S1: NaCl (0.9%)		
S2: Bio Cal® E	20 x 3 ml	#1430

Calibration frequency:

- A two-point calibration is recommended:
- after bottle change
 - quality control requirements

Fluitest® GLDH

GLUTAMATE DEHYDROGENASE



Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 86-88.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617-721.
3. Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Z.Klin.Chem.Klin.Biochem. 1972;10, 182 -192
4. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p.30-31



Fluitest® GLDH

GLUTAMATDEHYDROGENASE



Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
H7401 Hit I (ILab*)	R1 5 x 20 ml R2 1 x 20 ml
AU7401 AU	R1 5 x 20 ml R2 1 x 20 ml

(*) Kit enthält nur Reagenzien-Barcodes für Hitachi Systeme.

Systeminformation:

Hitachi 911: ACN 361-400 (benutzerdefinierte Methode)
 Hitachi 917: ACN 588
 Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

Anwendungszweck:

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung der Glutamat-Dehydrogenase in Humanserum und -plasma mit klinisch-chemischen Analysenautomaten.

Zusammenfassung:

Glutamatdehydrogenase (GLDH) ist ein mitochondriales Enzym, das in vielen Geweben vorkommt. Signifikante Erhöhungen der GLDH-Aktivität können bei Nekrose der Leberzellen, besonders bei akut-toxischer Lebernekrose und bei hypoxischer Hepatopathie gemessen werden. Die Messung von GLDH dient zur Abschätzung des Ausmaßes eines parenchymalen Schadens und, in Zusammenhang mit den Transaminasen ALAT/GPT und ASAT/GOT, zur Differentialdiagnose bei Lebererkrankungen. Die Berechnung des (ALAT+ASAT)/GLDH-Quotienten ermöglicht die Differenzierung zwischen entzündlichen Lebererkrankungen und Lebernekrosen, die auf Vergiftungen oder Ischämien zurückzuführen sind.

Testprinzip:

Optimierter UV-Test nach DGKC
 $2\text{-Oxoglutarat} + \text{NADH} + \text{NH}_4^+ \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-Glutamat} + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$

Konzentrationen der Reagenzien:

R1:	
Triethanolamin pH 8,0	75 mmol/l
α -Ketoglutarat	10 mmol/l
Ammoniumacetat	150 mmol/l
EDTA	3,75 mmol/l
ADP	1,5 mmol/l
LDH	> 2,3 kU/l
R2:	
NADH	1,3 mmol/l

Herstellung und Haltbarkeit:

Bis zum aufgedruckten Verfallsdatum bei +2°C bis +8°C haltbar. Vor Licht schützen. Kontaminationen vermeiden.
 R1: Gebrauchsfertig
 R2: Gebrauchsfertig

Untersuchungsgut:

Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma.
 Haltbarkeit: 7 Tage bei +20°C bis +25°C
 7 Tage bei +2°C bis +8°C
 4 Wochen bei -20°C

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.
 Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.
 Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung \pm 10% vom Ausgangswert.
 Ascorbinsäure: keine Interferenz bis 30 mg/dl
 Bilirubin: keine Interferenz bis 60 mg/dl
 Hämoglobin: keine Interferenz bis 500mg/dl.
 Lipämie stören.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Messbereich:

Messbereich: 2-120 U/l
 Proben mit höheren Aktivitäten werden über eine Rerun-Funktion bestimmt. Bei Geräten ohne Rerun-Funktion werden Proben mit höheren Aktivitäten manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) oder dest. bzw. entionisiertem Wasser verdünnt (z.B. 1 + 5). Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren (z.B. Faktor 6)

Referenzbereich:

Frauen < 5,0 U/L
 Männer < 7,0 U/L

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die GLDH-Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

2 U/l
 Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren GLDH-Aktivität, die von Null unterschieden werden kann.

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

• Reagenzien wie vorher angegeben.

Zusätzlich benötigte Materialien

- Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)
- übliche Laborausüstung

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge	340nm (Hg 334nm)
Temperatur	+37°C
Schichtdicke	1 cm
Messung	Luft oder Aqua dest.

Serum/Plasma

R1	1000 μ l
Probe	120 μ l

Mischen, ca. 3min. inkubieren, dann zugeben:

R2	200 μ l
----	-------------

Mischen, Extinktion nach 30sec. ablesen. Gleichzeitig Stoppuhr starten. Nach 1, 2 und 3min. Ablesung wiederholen und $\Delta E/\text{min}$ ermitteln.

Berechnung:

Mit Faktor:

340 nm $\Delta E/\text{min.} \times 1111 = \text{GLDH-Aktivität (U/l)}$
 Hg 334 nm $\Delta E/\text{min.} \times 1133 = \text{GLDH-Aktivität (U/l)}$

Mit Kalibrator:

$\Delta E/\text{min Probe} \times \text{X Kalibrator Konz.} = \text{GLDH-Aktivität (U/l)}$

$\Delta E/\text{min Kalibrator}$

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit ergab folgende Ergebnisse:

Probe	Tag / Tag		
	MW U/l	SD U/l	% VK
Probe 1	5,77	0,51	6,98
Probe 2	18,3	0,39	2,11
Probe 3	32,0	0,78	2,43

Probe	In der Serie		
	MW U/l	SD U/l	% VK
Probe 1	6,18	0,43	8,78
Probe 2	16,1	0,49	3,02
Probe 3	33,2	0,80	2,40

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest® GLDH (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten (U/l):
 $y = 1,034 x + 0,006$; $r = 0,999$

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum		
Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Fluitest[®] GLDH

GLUTAMATDEHYDROGENASE



Kalibration:

S1: NaCl (0,9%)

S2: Bio Cal[®] E

20 x 3 ml

#1430

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Zweipunktkalibration wird empfohlen:

- Bei Reagenzflaschenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Kalibrationsverifikation: Nicht erforderlich

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 86-88.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617-721.
3. Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Z.Klin.Chem.Klin.Biochem. 1972;10, 182 -192
4. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p.30-31

